

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.  
Vol. 16, 1978, pp. 525–529

## Induktion der Tyrosin-Aminotransferase (EC 2.5.1.5) in der Rattenleber durch Nicotinsäureamid

Von H. Kröger und Regina Grätz

Robert Koch-Institut des Bundesgesundheitsamtes, Abt. Biochemie, Berlin

(Eingegangen am 13. Juni/16. August 1978)

Herrn Prof. Dr. Dr. E. Schütte zum 70. Geburtstag gewidmet

**Zusammenfassung:** In intakten Ratten bewirkt Nicotinsäureamid einen Anstieg der Tyrosin-Aminotransferase in Abhängigkeit von der Dosis an Nicotinsäureamid. In adrenaletomierten Tieren steigt die Aktivität des Enzyms nur an bis zu einer Dosis von 250 mg/kg Nicotinsäureamid. Eine Kombination von Nicotinsäureamid mit *L*-Methionin und/oder Cortisonacetat führt kaum zu weiterem Enzym-Anstieg; erst bei zusätzlicher Gabe von *L*-Tyrosin wird dieser bemerkenswert.

### *Induction of tyrosine aminotransferase (EC 2.5.1.5) by nicotinamide in rat liver*

**Summary:** In intact rats nicotinamide induces an increase of tyrosine aminotransferase depending on the dose of nicotinamide. In adrenalectomized rats an increase of tyrosine aminotransferase activity is only found up to a dose of 250 mg/kg nicotinamide. The combination of nicotinamide with *L*-methionine and/or cortisone acetate does not cause a significant increase of the enzyme activity, which, however, can be seen in the presence of *L*-tyrosine.

### Einführung

In einer vorangehenden Arbeit befaßten wir uns mit dem Einfluß von *L*-Tryptophan auf die Induktion der Tyrosin-Aminotransferase (1). Wir beobachteten, daß die Induzierbarkeit der Tyrosin-Aminotransferase durch kleine Dosen Cortisonacetat und *L*-Tyrosin mit *L*-Tryptophan erheblich gefördert wird. In diesem Zusammenhang konnten wir auch die von Rosen et al. (2) beobachtete Induktions-Steigerung durch *L*-Methionin bestätigen. In den Rahmen dieser Studien haben wir nun das Nicotinsäureamid einbezogen. Von Blake und Kun (3–5) sowie Yamaguchi et al. (6) konnte bereits gezeigt werden, daß die Tyrosin-Aminotransferase durch Nicotinsäureamid induziert wird. Auch andere Enzyme werden durch das Nicotinsäureamid in ihrer Aktivität vermehrt (5–9). In der vorliegenden Arbeit haben wir uns eingehend mit der Wirkung von Nicotinsäureamid auf die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase auseinandergesetzt.

### Material und Methoden

#### Tiere

Für die Versuche wurden weibliche Ratten des Stammes Wistar (Zentrale Versuchstieranlage des Bundesgesundheitsamtes, Berlin) verwendet. Den adrenaletomierten Tieren wurde 5 Tage lang 0,15 mol/l NaCl-Lösung gegeben; dann wurden sie für die

Versuche eingesetzt. Die Substanzen wurden den Tieren intraperitoneal appliziert. Die Kontrollen erhielten jeweils 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung. In den Darstellungen ist der mittlere Fehler des Mittelwertes angegeben.

#### Bestimmung der Tyrosin-Aminotransferase

Die Aktivität des Enzyms wurde ermittelt wie bereits beschrieben (10). Die Protein-Bestimmung erfolgte nach dem Biuret-Verfahren (11).

#### Substanzen

Nicotinsäureamid, *L*-Methionin und *L*-Tyrosin: Merck, Darmstadt; Cortisonacetat: Ciba, Wehr/Baden.

### Ergebnisse

#### Intakte Tiere

##### *Nicotinsäureamid, normales Futter*

Bei Verabreichung von steigenden Dosen Nicotinsäureamid kommt es zu einer steten Zunahme der Tyrosin-Aminotransferase-Aktivität (Abb. 1); schon etwa 80 mg/kg Nicotinsäureamid haben einen Effekt. Es fällt auf, daß die Streuung relativ groß ist.

##### *Nicotinsäureamid, 18 Stunden Hunger*

Aus Abbildung 2 ist zu entnehmen, daß schon mit 250 mg/kg Nicotinsäureamid eine relativ hohe Tyrosin-

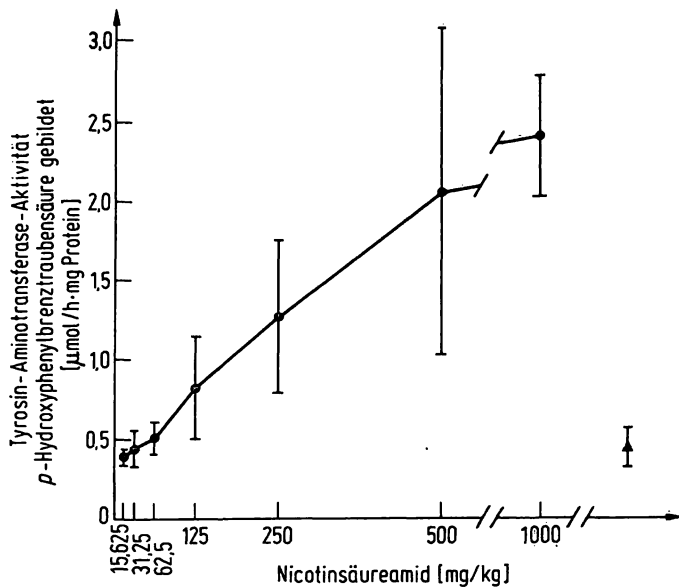


Abb. 1. Einfluß von steigenden Dosen Nicotinsäureamid auf die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase in der Leber normal ernährter, intakter Ratten. Die Tiere wurden 9 Stunden nach der Nicotinsäureamid-Injektion getötet.

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ;  $n = \text{je } 4-5 \text{ Tiere}$

▲ = Kontrolle: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung; signifikant unterschiedlich bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ab  $\geq 125 \text{ mg/kg}$  Nicotinsäureamid

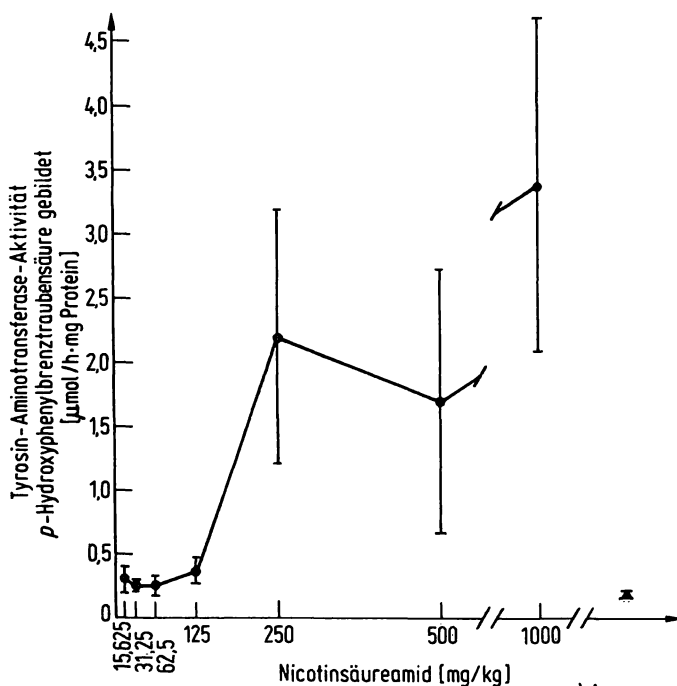


Abb. 2. Einfluß von steigenden Dosen Nicotinsäureamid auf die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase in der Leber intakter Ratten nach 18 Stunden Hunger. Die Tiere wurden 9 Stunden nach der Nicotinsäureamid-Injektion getötet.

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ;  $n = \text{je } 5-6 \text{ Tiere}$

▲ = Kontrolle: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung; signifikant unterschiedlich bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ab  $\geq 250 \text{ mg/kg}$  Nicotinsäureamid

Aminotransferase-Aktivität erzielt werden kann. Auch hier zeigt sich wieder eine erhebliche Streubreite.

#### Adrenalektomierte Tiere

##### Nicotinsäureamid, normales Futter

**Dosis-Abhängigkeit:** Bei Gaben bis zu 250 mg/kg Nicotinsäureamid steigt die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase in adrenalektomierten Tieren an (Abb. 3). Im Gegensatz zu den intakten Tieren ist die Aktivität jedoch geringer.

**Zeit-Abhängigkeit:** Bei Applikation von 500 mg/kg Nicotinsäureamid steigt die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase nach 5 Stunden an (Abb. 4). Nach 7 Stunden sind die höchsten Werte erreicht, die auch über die weitere Beobachtungszeit konstant bleiben.

##### Nicotinsäureamid, 18 Stunden Hunger

Wie aus Abbildung 5 zu ersehen ist, kommt es nach Nicotinsäureamid-Gabe ähnlich wie bei intakten Tieren, die gehungert haben, zu einem abrupten Anstieg der Tyrosin-Aminotransferase-Aktivität. Jedoch wird eine bestimmte Aktivitäts-Höhe ähnlich wie bei den normal ernährten, adrenalektomierten Tieren nicht überschritten.

##### Nicotinsäureamid in Kombination mit anderen Substanzen, normales Futter

**Cortisonacetat:** Wie frühere Studien ergeben haben, bewirken 2,5 mg/kg Cortisonacetat keine Induktion der Tyrosin-Aminotransferase (12). Auch in Kombination

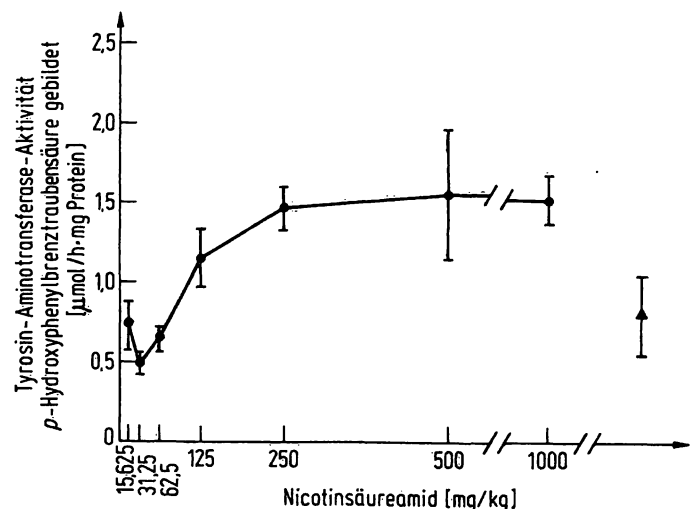


Abb. 3. Einfluß von steigenden Dosen Nicotinsäureamid auf die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase in der Leber normal ernährter, adrenalektomierter Ratten. Die Tiere wurden 9 Stunden nach der Nicotinsäureamid-Injektion getötet.

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ;  $n = \text{je } 4 \text{ Tiere}$

▲ = Kontrolle: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung; signifikant unterschiedlich bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ab  $\geq 250 \text{ mg/kg}$  Nicotinsäureamid

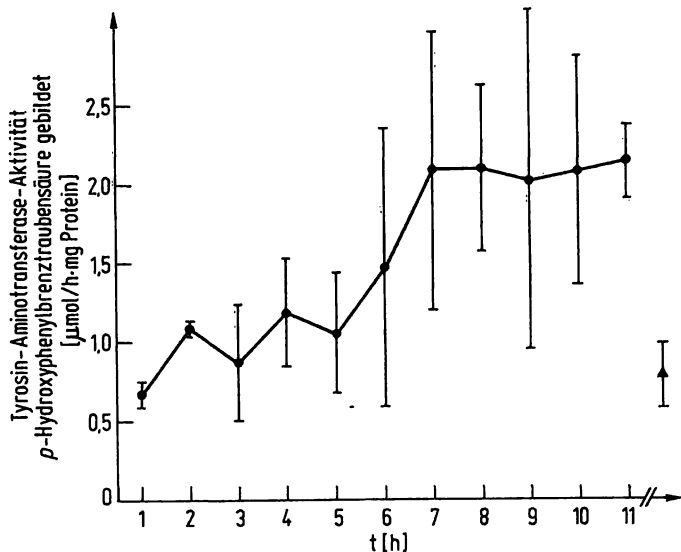


Abb. 4. Induktion der Tyrosin-Aminotransferase durch 500 mg/kg Nicotinsäureamid in der Leber normal ernährter, adrenalectomierter Ratten in Abhängigkeit von der Zeit.

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ; n = je 3 Tiere

▲ = Kontrolle: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung; signifikant unterschiedlich bei 5% Irrtumswahrscheinlichkeit bei 2h, 8h, 10h, 11h

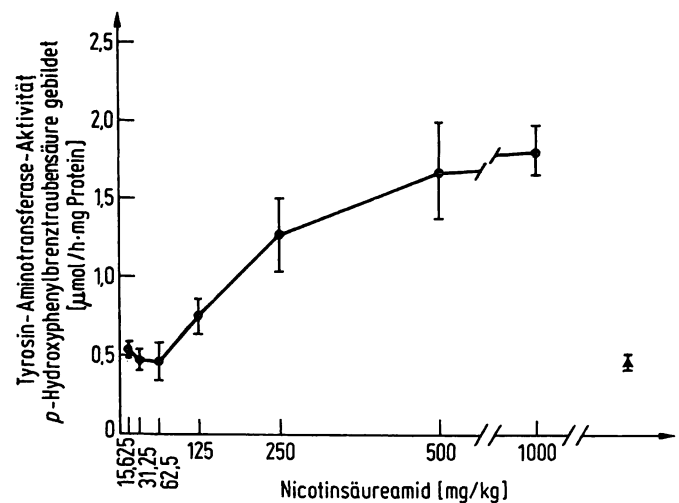


Abb. 6. Einfluß von steigenden Dosen Nicotinsäureamid auf die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase in der Leber normal ernährter, adrenalectomierter Ratten bei gleichzeitiger Gabe von 2,5 mg/kg Cortisonacetat. Die Tiere wurden 9 Stunden nach der Injektion getötet.

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ; n = je 3–4 Tiere

▲ = Kontrolle: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung + 2,5 mg/kg Cortisonacetat; signifikant unterschiedlich bei 5% Irrtumswahrscheinlichkeit ab  $\geq 125$  mg/kg Nicotinsäureamid

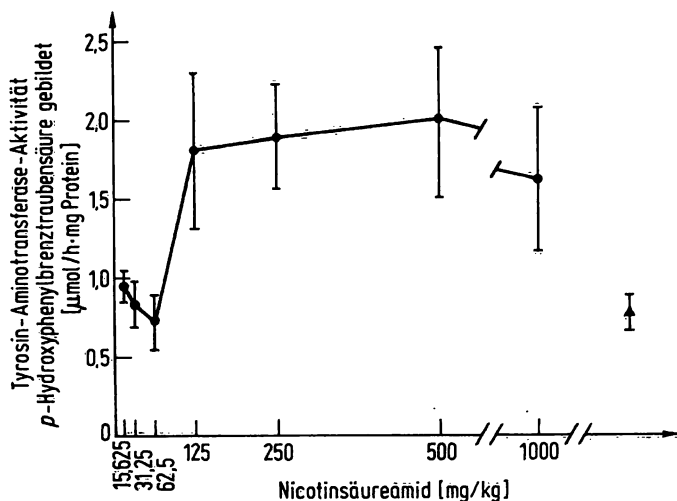


Abb. 5. Einfluß von steigenden Dosen Nicotinsäureamid auf die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase in der Leber adrenalectomierter Ratten nach 18 Stunden Hunger. Die Tiere wurden 9 Stunden nach der Nicotinsäureamid-Injektion getötet.

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ; n = je 5 Tiere

▲ = Kontrolle: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung; signifikant unterschiedlich bei 5% Irrtumswahrscheinlichkeit bei 15, 62,5 mg/kg und ab  $\geq 125$  mg/kg Nicotinsäureamid

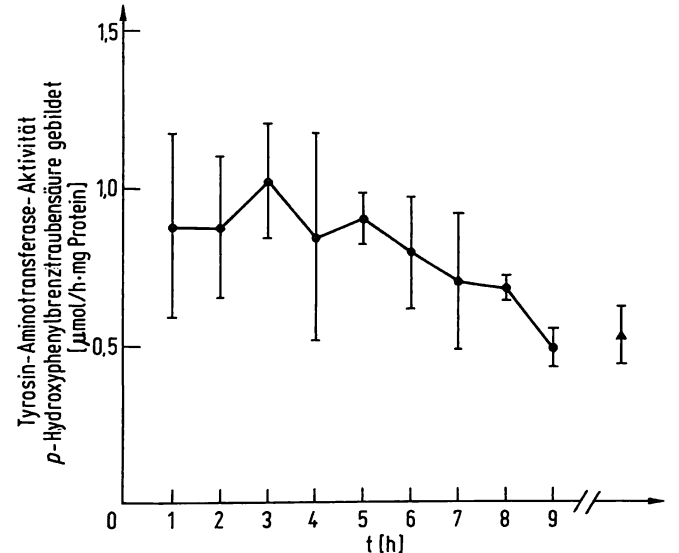


Abb. 7. Induktion der Tyrosin-Aminotransferase durch 500 mg/kg L-Methionin in der Leber normal ernährter, adrenalectomierter Ratten in Abhängigkeit von der Zeit.

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ; n = je 3 Tiere

▲ = Kontrolle: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung; signifikant unterschiedlich bei 5% Irrtumswahrscheinlichkeit bei  $\leq 6$ h, 8h

mit Nicotinsäureamid bleibt diese Cortisonacetat-Menge ohne Einfluß (Abb. 6).

**L-Methionin (Zeit-Abhängigkeit):** Aus Abbildung 7 ist zu entnehmen, daß bereits eine Stunde nach Applikation von 500 mg/kg L-Methionin die Aktivität der Tyrosin-

Aminotransferase, wenn auch nur gering, angestiegen ist. Von der 3. Stunde an kommt es dann zu einem steten Abfall der Tyrosin-Aminotransferase-Aktivität.

**Nicotinsäureamid + L-Methionin:** Wenn steigenden Dosen Nicotinsäureamid jeweils 300 mg/kg L-Methionin

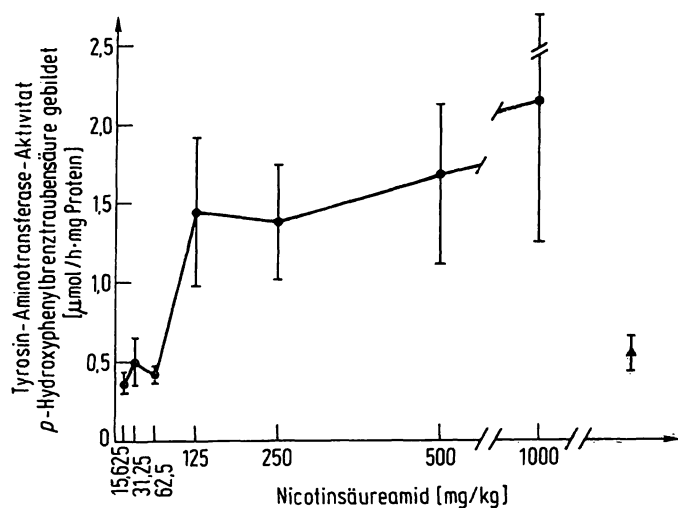


Abb. 8. Einfluß von steigenden Dosen Nicotinsäureamid auf die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase in der Leber normal ernährter, adrenaletomierter Ratten bei gleichzeitiger Gabe von 300 mg/kg *L*-Methionin. Die Tiere wurden 9 Stunden nach der Injektion getötet.

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ;  $n = \text{je 4 Tiere}$

▲ = Kontrolle: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung + 300 mg/kg *L*-Methionin; signifikant unterschiedlich bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ab  $\geq 125$  mg/kg Nicotinsäureamid

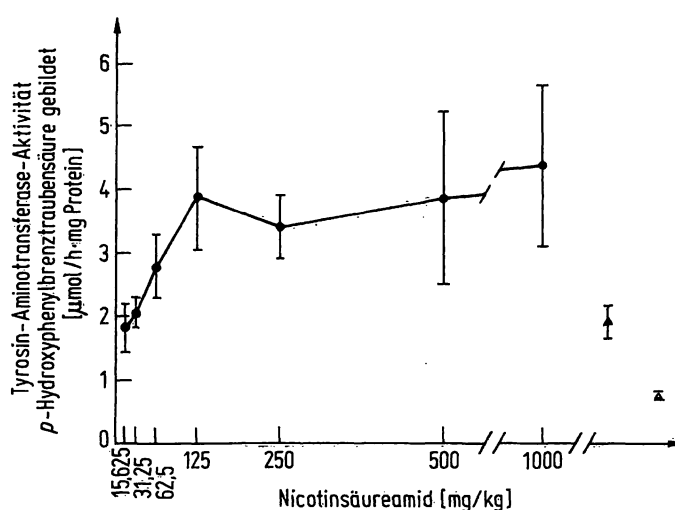


Abb. 10. Einfluß von steigenden Dosen Nicotinsäureamid auf die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase in der Leber normal ernährter Ratten bei gleichzeitiger Gabe von 2,5 mg/kg Cortisonacetat, 300 mg/kg *L*-Methionin und 400 mg/kg *L*-Tyrosin. Die Tiere wurden 9 Stunden nach der Injektion getötet.

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ;  $n = \text{je 6 Tiere}$

▲ = Kontrolle I: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung + 300 mg/kg *L*-Methionin + 2,5 mg/kg Cortisonacetat + 400 mg/kg *L*-Tyrosin; signifikant unterschiedlich ab  $\geq 62,5$  mg/kg Nicotinsäureamid

△ = Kontrolle II: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung; signifikant unterschiedlich bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ab  $\geq 15,625$  mg/kg Nicotinsäureamid

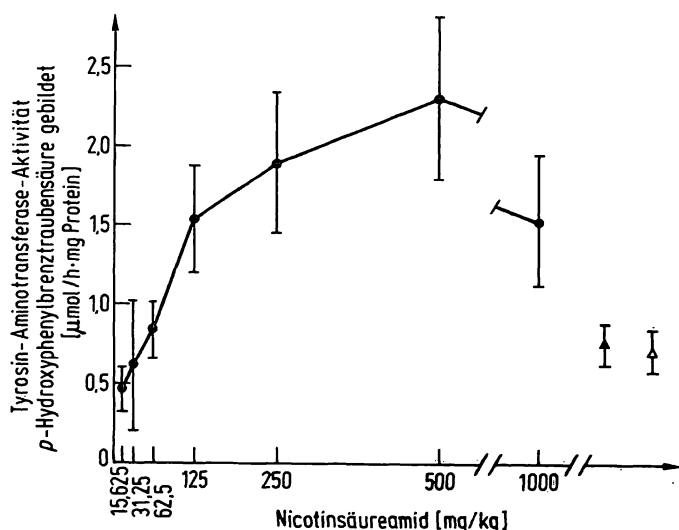


Abb. 9. Einfluß von steigenden Dosen Nicotinsäureamid auf die Aktivität der Tyrosin-Aminotransferase in der Leber normal ernährter, adrenaletomierter Ratten bei gleichzeitiger Gabe von 2,5 mg/kg Cortisonacetat und 300 mg/kg *L*-Methionin. Die Tiere wurden 9 Stunden nach der Injektion getötet.

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ ;  $n = \text{je 4-5 Tiere}$

▲ = Kontrolle I: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung + 300 mg/kg *L*-Methionin + 2,5 mg/kg Cortisonacetat; signifikant unterschiedlich bei 15,625 mg/kg und ab  $\geq 125$  mg/kg Nicotinsäureamid

△ = Kontrolle II: 10 ml/kg 0,15 mol/l NaCl-Lösung; signifikant unterschiedlich bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ab  $\geq 125$  mg/kg Nicotinsäureamid

zugesezt werden, tritt nur eine geringe Zunahme der Tyrosin-Aminotransferase-Aktivität ein (Abb. 8).

**Nicotinsäureamid + *L*-Methionin + Cortisonacetat:** Bei dieser Kombination liegt die Tyrosin-Aminotransferase-Aktivität am höchsten bei einer Dosis von 500 mg/kg Nicotinsäureamid (Abb. 9).

**Nicotinsäureamid + *L*-Methionin + Cortisonacetat + *L*-Tyrosin:** Unter diesen Bedingungen erreicht die Tyrosin-Aminotransferase-Aktivität die von allen Versuchen höchsten Werte (Abb. 10). Dieses zeigt sich schon bei geringen Dosen Nicotinsäureamid.

## Diskussion

Die Induktion der Tyrosin-Aminotransferase durch Nicotinsäureamid wird erheblich gesteigert, wenn das Nicotinsäureamid in einer Kombination mit *L*-Methionin, Cortisonacetat und *L*-Tyrosin verabreicht wird. Nicotinsäureamid ohne Zusätze führt zu einer wesentlich geringeren Steigerung; dieses ist bei adrenaletomierten Tieren noch stärker ausgeprägt als bei intakten. Bei den Enzymen Transketolase und Transaldolase hat man ähnliche Ergebnisse gefunden (9). Daraus läßt sich ableiten, daß das Cortison für die Induktion eine Rolle spielt.

Die Ursache für die durch Nicotinsäureamid gesteigerte Enzym-Induktion könnte darin begründet liegen, daß das applizierte Nicotinsäureamid eine Zunahme des Nicotinsäureamidpools bewirkt (13, 14) und als Substrat

u. a. die Bildung der Polyadenosindiphosphat-ribose begünstigt, deren Beteiligung bei Regulations- bzw. Differenzierungsprozessen diskutiert wird.

### Literatur

1. Kröger, H., Löwel, M. & Kessel, H. (1968), Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 349, 1221–1224.
2. Rosen, F. & Milholland, R. J. (1963), J. Biol. Chem. 238, 3730–3735.
3. Blake, R. L., Blake, S. L., Loh, H. H. & Kun, E. (1967), Mol. Pharmakol. 3, 412–422.
4. Blake, R. L. (1970), Can. J. Biochem. 48, 1043–1049.
5. Blake, R. L. & Kun, E. (1971), Methods Enzymology 18, 113–123.
6. Yamaguchi, K., Sakakibara, S., Kogy, K. & Neda, I. (1971), Biochim. Biophys. Acta 237, 502–512.
7. Pallini, V., Vasconetto, C. & Ricci, C. (1965), Giorn. Biochim. 14, 743–748.
8. Labbe, R. F., Nutter, J., Carger, M. L. & Nielsen, L. C. (1970), Biochem. Med. 3, 465–474.
9. Lorenzoni, I., Calabria, G. A. & DeFlora, A. (1966), Boll. Soc. Ital. Biol. 42, 899–902.
10. Kröger, H. & Greuer, B. (1965), Biochem. Z. 341, 190–198.
11. Gornall, A. G., Bardawill, C. J. & David, M. M. (1949), J. Biol. Chem. 177, 751–764.
12. Kröger, H. & Greuer, B. (1966), Nature 210, 200–201.
13. Feigelson, P., Williams jr, J. N. & Elvehjem, C. A. (1951), Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78, 34–36.
14. Kröger, I., Werchau, H. & Kröger, H. (1966), Z. Krebsforsch. 68, 156–163.

Prof. Dr. Dr. H. Kröger  
Robert Koch-Institut  
Nordufer 20  
1000 Berlin 65

